

【目的】腫瘍の形成・進展には、腫瘍細胞と微小環境の相互作用が重要である。以前著者はホジキンリンパ腫と腫瘍関連マクロファージ (TAM) の直接接触で、トロゴサイトーシスという細胞同士の直接接触を介した膜移動が生じ、ホジキンリンパ腫の PD-L1/L2 が単球/TAM に受け渡され、この PD-L1/L2 が CD3⁺T 細胞活性の抑制を導いてがん進展に寄与する可能性を示した (図参照)。今回同じ血液がんであり単球/TAM の重要性が示唆されていた多発性骨髄腫と、マクロファージの接触に着目した。In vitro でまずは骨髄腫細胞株とマクロファージを直接接触させ、骨髄腫からマクロファージに移る分子を、RNA-seq や膜蛋白解析を行うことで、mRNA は変化ないが蛋白で上昇した因子に注目することを目的とした。まずそのための条件検討を行った。

【方法】以下の検討を行った。1) 効率よくトロゴサイトーシスが發生する骨髄腫細胞株の同定を試みた。代表的な骨髄腫細胞株である RPMI8226、MM1S、KMS-11、OPM-2 において、公共データベースを用いた RNA 発現解析量解析とパスウェイ解析を行い、トロゴサイトーシスに関与する遺伝子発現が多い細胞株を検討した。2) 蛋白解析を行うためには、腫瘍細胞の蛋白を効率よく回収する系の確立が必要であり、細胞膜に存在する ATP1A1 に注目した。まずは HeLa 細胞において ATP1A1 を過剰発現させ APEX を用いてラベリングすることが可能ならば、今後骨髄腫細胞でも同様の系を用いて膜蛋白回収が可能と考え検討した。3) さらに多発性骨髄腫患者において末梢血の単球の推移と予後の関連を、現在の骨髄腫治療において標準治療である DRd 療法でも重要であることを示せば、治療と単球/TAM の関連が密接にあり本研究の意義が高まると考えられ、DRd 療法を行った当施設における患者と単球の推移についての検討を行った。

【結果】以下の結果を得た。1) RPMI8226 がトロゴサイトーシスに関与の深い「微小管細胞骨格の制御」についての遺伝子発現が多いことが明らかとなり、今後は RPMI8226 を用いることとした。2) Flag-APEX-ATP1A1 を過剰発現させた HeLa 細胞においてバンドが確認でき、今後この系を用いて膜蛋白解析を進めることとした。3) DRd 療法施行前と比べ、施行後単球が減少した際は予後不良となることが明らかとなった。今後本研究を進めていくにあたり、治療による影響、また骨髄腫の抗体薬自身がトロゴサイトーシスを起こすことも知られておりこの影響も加味して、解析を進める必要性が示唆された。

マクロファージへ移った分子の意義を検討する

